GE Healthcare

QuixStand システム

簡易マニュアル

GE ヘルスケアバイオサイエンス株式会社
バイオダイレクトライン
TEL：03-5331-9336、FAX：03-5331-9370
e-mail：Tech-JP@ge.com

Revised 2008/08/18

GE imagination at work

安全上のご注意

必ずお守りください

弊社機器に関する一般的な注意事項を記載しています。取扱いの詳細は必ず製品添付の使用説明書をご覧ください。

誤った取扱いをした場合に生じる危険や損害の程度を、次の区分で説明しています。

警告	誤った取扱いをした場合に、死亡や重傷を負う可能性があるもの。
注意	誤った取扱いをした場合に、傷害または物的損害が発生する可能性があるもの。

図記号の意味は次の通りです

禁止	してはいけない「禁止」を示します。
	必ず実行していただく「強制」を示します。

警告

禁止	**電源プラグの抜き差しにより、運転を停止しない** 火災・感電の原因になります。
禁止	**電源コード・電源プラグを傷つけない** ●加工しない ●束ねない ●ねじらない ●折らない ●物をのせない ●加熱しない ●無理に曲げない 破損して火災・感電の原因になります。
根元まで差込む	**電源プラグのほこりを取り除き、刃の根元まで確実に差込む** 接続が不十分だと、隙間にほこりが付着して火災・感電の原因になります。
禁止	**本体を水につけたり、水をかけたりしない** ショート・感電の原因になります。
禁止	**使用時や使用直後（運転停止後約 60 分間）は、操作に関係のない部位には触れない** 高温部に触れ、やけどの原因になります。
禁止	**同梱の電源コード・電源プラグ以外のコード・プラグを使用しない** 故障・火災・感電の原因になります。
禁止	**電源コードを途中で接続しない、タコ足配線をしない** 火災・感電・故障の原因になります。
禁止	**修理・分解・改造はしない** 火災・感電の原因になります。
指定の規格	**取扱説明書に指定された規格のコンセントを使用する** 指定された規格以外で使用すると火災・感電の原因になります。
禁止	**電源コードや電源プラグが傷んでいる、コンセントの差し込みがゆるいときは使わない** 感電・ショート・発火の原因になります。
プラグを抜く	**異常時は、運転を停止して電源プラグを抜く** 異常のまま運転を続けると火災・感電の原因になります。
禁止	**同梱の電源コード・電源プラグを他の電気機器に使用しない** 故障・火災・感電の原因になります。

注意

 禁止	**設置時は、次のような場所には置かない** ●不安定な場所 ●湿気やほこりの多い場所 ●油煙や湯気が当たる場所 ●直射日光の当たる場所 ●風雨のあたる場所 ●熱器具の近く ●高温になる場所 ●吸・排気口をふさぐような場所 このような場所に置くと、ショートや発熱、電源コードの被膜が溶けるなどして、火災や感電、故障、変形の原因になることがあります。

 禁止	**ぬれた手で電源プラグを抜き差ししない** 感電の原因になります。
 水平	**水平で丈夫な場所に設置する**
 プラグを持つ	**電源プラグを持ってまっすぐ引き抜く** ななめに引き抜いたり、コードを持って抜くと、プラグの刃や芯線が破損してショート・感電・発火の原因になります。

低温室で使用する場合の注意

 電源を入れる	**装置を低温環境下でご使用になる場合、システム電源は常時入れておく** 低温環境下で長時間システムの電源を落とした状態で放置すると、結露などにより故障の原因になります。ランプなどの消耗品は OFF にしておくと、劣化を防ぐことができます。

 電源を入れない	**装置を低温室から常温の場所に移動させる場合、常温に設置後、装置内の結露が無くなるまでシステム電源を入れない（状況により異なるが、通常半日から一昼夜）** 感電・漏電火災の原因になります。

本マニュアルは QuixStand システムに Xampler カートリッジを接続して使用する方法を中心に記載したマニュアルです。使用方法の詳細については製品付属の英文マニュアルを参照してください。

製品の梱包物は開梱時にご確認下さい。開梱時に未確認のまま生じた不具合に関して、弊社では保証致しかねることがあります。

掲載内容は予告無しに変更することがありますので、あらかじめご了承下さい。

目次

1. メンブランの選定 3

2. QUIXSTAND システムのセットアップ 4

3. カートリッジの装着 5

4. 新しいカートリッジの前処理 5

4.1. UF 膜カートリッジの前処理 5
4.2. MF 膜 6

5. ホールド アップ テスト 6

6. 初期水透過流束（INITIAL WATER FLUX）の測定 7

7. 実液処理.A ― タンパク質の濃縮・バッファー交換 ― 8

7.1. 準備 8
7.2. 供給流速を決める 8
7.3. 膜間圧差（TMP）と透過流束（FLUX）の至適化 8
7.4. 膜間差圧（TMP）の至適化の方法 10
7.5. 濃縮操作開始 11
7.6. 透析 11
7.7. 濃縮液の回収 12

8. 実液処理.B ― 細胞破砕物の清澄化・目的分子の透過 ― 13

8.1. 準備 13
8.2. 供給流速を決める 13
8.3. ろ過操作開始 13
8.4. 加水操作 14

9. 実液処理.C ― 動物細胞培養液からの目的分子の透過回収 ― 15

9.1. 準備 15
9.2. 供給流速を決める 15
9.3. 透過流束（FLUX）の至適化 15
9.4. 細胞洗浄/加水操作 16

10. カートリッジの洗浄 17

11. カートリッジの保管 17

11.1. UF 膜カートリッジの保管法 17
11.2. MF 膜カートリッジの保管法 18

12. アプリケーションに適した QUIXSTAND システムの流路の設計 19

13. HOLLOW FIBER CARTRIDGE 選択ガイド 20

13.1. ポアサイズ 20
13.2. ルーメン内径とカートリッジの長さ 20

14. XAMPLER カートリッジの物理特性 21

15. せん断力と供給流速 21

実験ログシート 23

このインストラクションマニュアルは、Xampler Laboratory Cartridges を QuixStand System に装着して使用することを前提に記述されています。

【用意するもの】

・メスシリンダー：　100ml, 250ml, 500ml, 1000ml 各 1 個
・ビーカーまたはフラスコ：　500ml, 1L 各 1 個
・ストップウォッチ：　1 個
・清浄水：　10L
（注射用水または 10,000 NMWC の UF 透過水）
・カートリッジ洗浄薬剤
0.5N 水酸化ナトリウム 水溶液：　2L
次亜塩素酸ナトリウム（5%水溶液）：　10ml

1. メンブランの選定

適切なポアサイズ、ルーメン内径と膜面積のカートリッジを選択してください。

- ポアサイズ、ルーメン内径、長さの選択に当たっては、『13. Hollow Fiber cartridge 選択ガイド』の項をご参照ください。
- カートリッジの膜面積については、『14. Xampler Laboratory Cartridges の物理的特性』の項、および《Selecting Hollow Fiber Cartridges and Systems》（弊社発行小冊子）をご参照ください。

また、適切なカートリッジの選択に当たっては以下の項目を考慮してください。

【処理の目的】

- どんな溶液から何を分けるか？
- 目的物を透過させるのか回収するのか？

【サンプル溶液の性状】

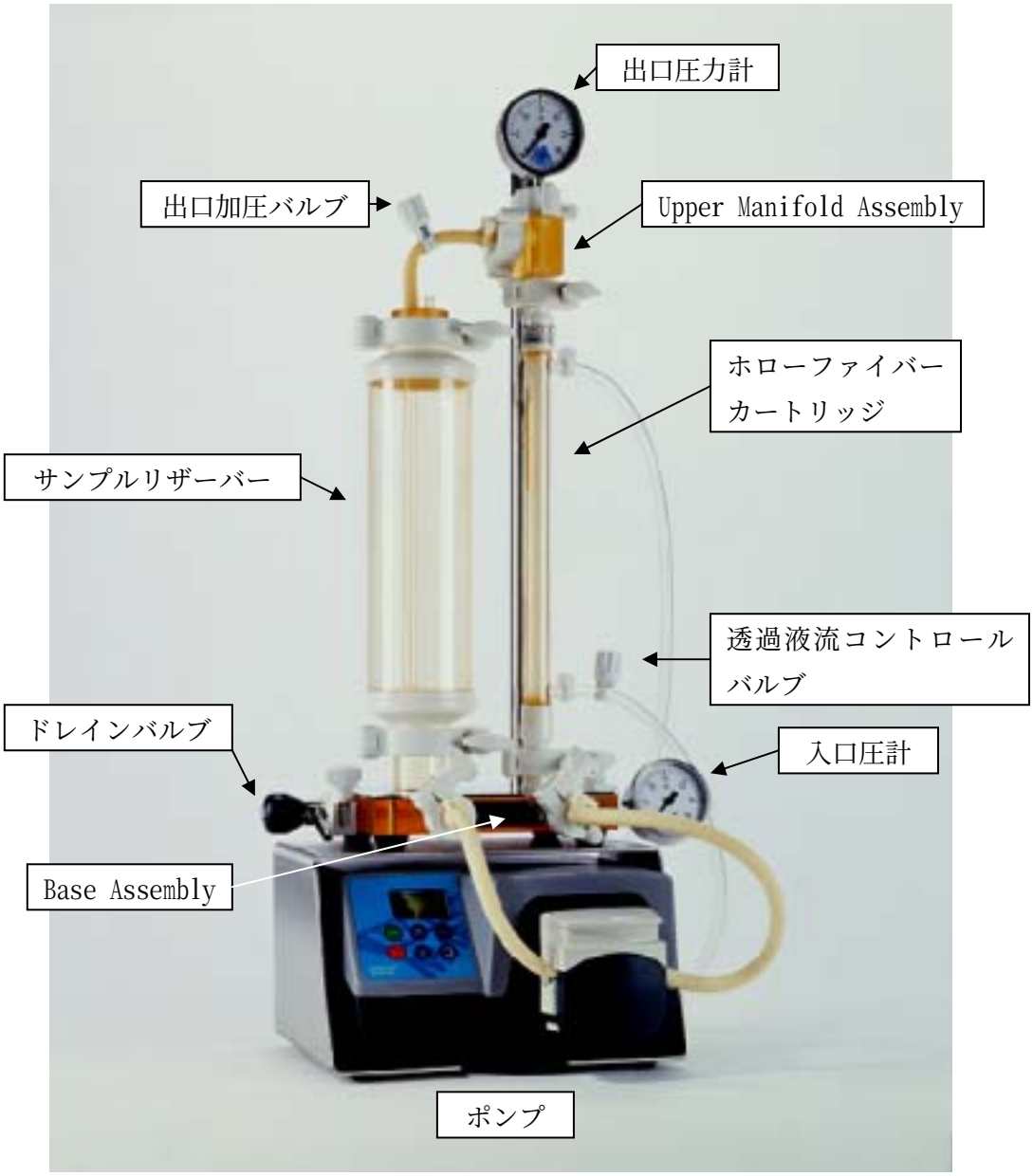
- 目的分子の大きさは？（MW、μm）
- 溶液に含まれる顆粒成分は？（細胞、デブリス）
- 溶液の粘性は？（高・中・低）
- 溶液に界面活性剤あるいは消泡剤が含まれているか？

【処理量と時間】

- 処理量は？
- 希望する処理時間は？

2. QuixStand システムのセットアップ

下図のようにシステムを組み上げてください。
詳細はシステムに添付されている『QuixStand Assembly & Operating Guide』に従ってください。



3. カートリッジの装着

1. カートリッジを袋から開封し破損がないことを確認します。
2. カートリッジを Base Assembly と Upper Manifold Assembly の間に装着します。カートリッジの上下はありません。

※ UF 膜を使用した濃縮またはバッファー交換の場合、カートリッジの下部透過液ポートにチューブを取り付けます。上部透過液ポートは閉じておきます。

※ MF 膜やポアサイズの大きな UF 膜（500-750 NMWC）で細胞濃縮や細胞ホモジェネートから目的物を透過回収する清澄化工程を行う場合は、カートリッジの上部透過液ポートにチューブを取り付けて透過液を回収します。下部ろ過ポートは閉じておきます。この場合、ポアの目詰まりによる透過流束の急激な低下を避けるため、透過液の流量コントロールを行うことをおすすめいたします。

4. 新しいカートリッジの前処理

4.1. UF 膜カートリッジの前処理

UF カートリッジは、膜の乾燥を防ぐために、膜のポア内がアルコールとグリセロール溶液で前処理されています。使用前に下記の手順に従ってこれらの保存溶液を洗い流してください。

1. 清浄水（注射用水または 10,000 NMWC の UF 透過水）を 10L 用意します。
2. リザーバーに清浄水を入れます。
3. 透過液チューブおよび未透過液チューブの出口を廃液容器に回します。
4. 出口加圧バルブを全開にします。
5. ポンプを作動させます。

・サイズ３カートリッジ：400-600 ml/min.
・サイズ４カートリッジ：800-1,000 ml/min.

6. 出口加圧バルブを調整し平均膜間圧差（TMP）がポアサイズ 1,000 NMWC、3,000 NMWC で 15 psig、5,000～30,000 NMWC で 10 psig、それ以上のポアサイズで 5 psig となるように調整します。必要に応じて、ポンプ流速を調整してください。

※ 膜間圧差（TMP） = $\frac{\text{（入口圧＋出口圧）}}{2}$ －（透過圧）

7. リンス中の未透過流と透過流は両方とも廃棄します。（カートリッジに循環させない）
8. 温めた清浄水（50℃以下）を使用すると、リンスの効率が高まります。逆に、冷水ではリンスが不十分になることがあります。
9. 清浄水によるリンス液量は、サイズ３カートリッジで５L、サイズ 4 カートリッジで 10Ｌ程度です。

4.2. MF 膜

MF カートリッジは防腐剤を使用せず乾燥した状態で出荷されています。下記の手順に従って前処理を行ってください。

1. 清浄水（注射用水または 10,000 NMWC の UF 透過水）を 10L 用意します。
2. リザーバーに清浄水を入れます。
3. 透過液チューブおよび未透過液チューブの出口をリザーバーに入れます。
4. 出口加圧バルブを全開にします。
5. ポンプを作動させます。

・ サイズ３カートリッジ：400-600 ml/min.

・ サイズ４カートリッジ：800-1,000 ml/min.

6. 出口加圧バルブを調整して入口圧が 5 psig になるようにします。
7. 10 分間程清浄水をカートリッジに循環させます。

5. ホールド アップ テスト

システムの流路に漏れがないかを次の手順に従って確認します。

1. ドレインバルブを開き、システムから溶液を除きます。
2. ポンプを作動させカートリッジ内にある溶液を除きます。
3. 出口加圧バルブを完全に閉じてポンプをゆっくり作動させます。
4. 入口圧が約 10psi に達した時点でポンプを止めます。
5. 1 分後にカートリッジ入口圧が低下しないことを確認します。
6. 圧力が急激に低下するときは、各接続部を再確認してください。

※ 通常 1 psig 程度の圧力低下が見られますが、これは空気が膜にゆっくりと浸透してゆくためで、異常ではありません。

6. 初期水透過流束（Initial Water Flux）の測定

リンス後、次のステップとして、清浄水による初期水透過流束を測定します。使用後にカートリッジを洗浄した後の Flux 値との正確な比較が行えるようにするため、再現しやすい条件下で測定する必要があります。次のパラメーターを確認してください。

・水温
・カートリッジの入口圧
・カートリッジの出口圧
・透過流の圧力

・初期水透過流束の測定方法

1. リザーバー内に清浄水を入れます。
2. 未透過流チューブと透過液チューブをリザーバーに入れます。
3. 出口加圧バルブを全開にします。
4. ポンプを作動させます。
5. ・サイズ３カートリッジ：400-600 ml/min.
6. ・サイズ４カートリッジ：800-1,000 ml/min.
7. カートリッジ出口加圧バルブを少し閉め、その時のカートリッジ入口圧、出口圧と透過流量をメスシリンダーで計量します。
8. 出口バルブの開閉度を変えながら 3～4 ポイントでデータを取ります。
9. 「デモ評価シート」にデータを書き込み、透過流束（Flux）を計算します。

$$\text{透過流束 Flux (lmh)} = \frac{\text{透過液量(ml/min)}}{\text{カートリッジの膜面積}(m^2)} \times 0.06$$

7. 実液処理.A　―　タンパク質の濃縮・バッファー交換　ー

UF 膜カートリッジを用いて効率的にタンパク質の濃縮やバッファー交換を行うためには、膜間差圧（TMP）の至適化を行う必要があります。また、下記の点に注意してろ過操作を行ってください。

・ポアサイズ：目的分子の 1/3-1/5 のポアサイズ
・供給流速：Shear Rate 8,000 sec-1 以上（目的分子がせん断力に対し弱い場合は供給流速を下げてください）
・リザーバー内で泡立ちを防ぐため、リザーバー内のチューブ出口が液面より上に上がらないように配管の長さを調整すること

7.1.　準備

1. サンプルリザーバータンクにサンプル溶液を入れます。サンプル溶液が１L 以上ある場合は残りを容器に入れ、リザーバーの上蓋の空いている口にシリコンチューブを接続してサンプルを入れた容器にシリコンチューブの端を入れます。あるいは、適時サンプル溶液をリザーバー内に追加します。
2. カートリッジ上部透過液ポートを閉じます。
3. カートリッジ下部透過液ポートに付けたチューブの出口をサンプルリザーバーに入れて、定濃度運転の状態にしておきます。

7.2.　供給流速を決める

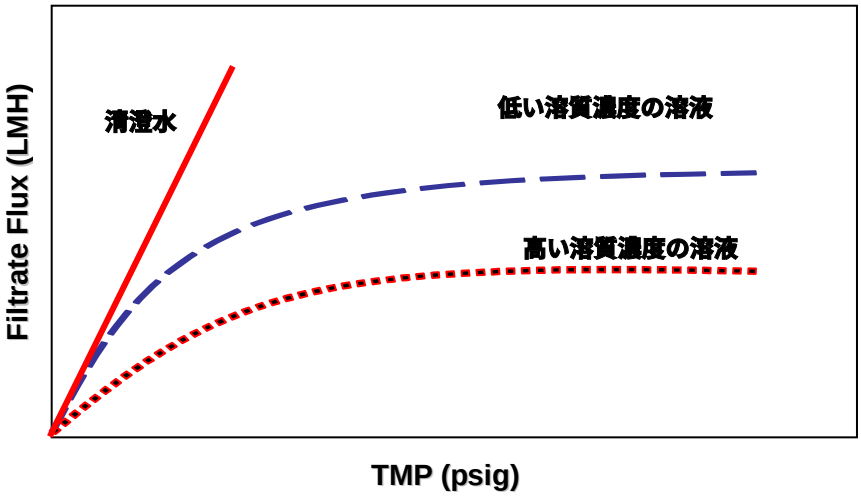
1. 『14. せん断力と供給流速』の表を参照し供給流速を決めます。
2. タンパク質の濃縮の場合は、Shear Rate 8,000 sec-1 以上の流速に設定してください。

7.3.　膜間圧差（TMP）と透過流束（Flux）の至適化

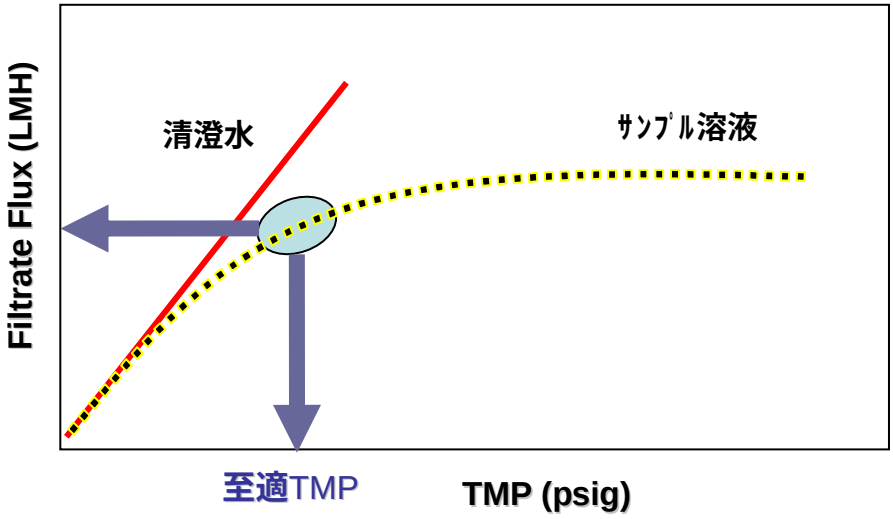
透過液チューブに付けた出口加圧バルブで膜に圧力をかけことにより、透過液を得ることができます。透過流束は、初めは膜間圧差（TMP）に比例して増加しますが、ある程度膜間圧差（TMP）を高めると、透過流束（Flux）はプラトーに達します。透過流束（Flux）がプラトーに達する膜間圧差（TMP）は供給液中のタンパク質濃度に反比例します。また、供給流速が速いほど、透過流束（Flux）がプラトーに達する膜間圧差（TMP）は高くなります。ただし、供給流速を速めるとサンプルに対するせん断力も高まるので注意が必要です。

至適化された膜間圧差（TMP）とは、サンプルに適した供給流速のもとで、透過流束（Flux）がプラトーに達する直前の値になります。

溶液中のタンパク質濃度と Flux の関係



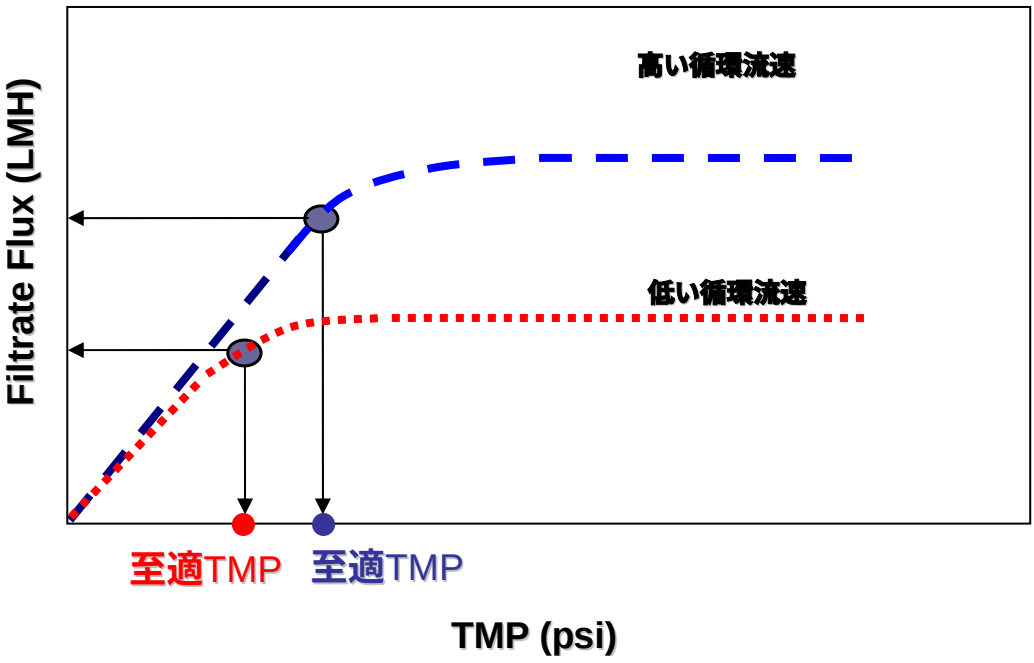
膜間圧差の至適化



7.4. 膜間差圧（TMP）の至適化の方法

1. 透過液チューブの出口をサンプルリザーバータンクに入れます。
2. カートリッジ出口加圧バルブを全開にし、ポンプを 7-１で決めた供給流速で動かします。
3. カートリッジ出口加圧バルブを徐々に締めて行き膜にかかる圧力を高めてゆきます。カートリッジ入口圧、出口圧、透過流量をそれぞれ測定し「実験ログシート」に記入します。
4. カートリッジ出口加圧バルブの徐々に閉じながら、透過流束（Flux）がプラトーに達するまで４～５ポイントのデータを収集します。（例えば１５ psig, 20psig, 25psig, 30psig, 35psig）
5. 得られたデータをグラフにプロットします。
6. ある流束での最適操作圧は、出来上がったグラフの曲線の勾配が緩やかになり始める付近の圧力（プラトーに達する前）になります。
7. 必要に応じて、供給流速を変えてデータを収集して膜間圧差（TMP）の至適化を行ってください。

供給液量と TMP および Flux の関係



7.5. 濃縮操作開始

1. 透過液チューブをサンプルリザーバータンクから別の容器に移します。
2. カートリッジ出口加圧バルブを全開にし、7.2 で設定した供給流速でポンプを始動します。
3. 7.4 で至適化された膜間差圧（TMP）になるよう出口加圧バルブを調整し、濃縮操作を開始します。
4. 定時的に「実験ログシート」に入口圧、出口圧、透過液量を記入します。
5. 操作中はリザーバー内で循環液による気泡の発生を防ぐため、未透過液のチューブ出口は常に供給液面下になるよう注意してください。
6. 未透過液量が設定した濃縮率になったことを確認します。

※ 処理が終了に近づくと通常入口圧と出口圧ともに上昇します。また透過流束（Flux）徐々に低下してきます。透過流束（Flux）の低下が著しい場合は次の操作を行ってください。

・出口加圧バルブを全開にして３０秒間ほどそのまま濃縮液を還流させてから、１０%程低い膜間差圧（TMP）に設定しなおす。
・供給流速を速める。（目的分子へのせん断力も高まるので可能な場合のみ）
・透析操作を開始する。

7.6. 透析

透析は UF 膜を用いて溶液から塩類や低分子の溶質を除去する方法です。透析対象処理溶液の約３倍の透析液を使用することにより低分子溶質の９５%が除去されます。
透析を開始するタイミングは以下の方法があります。

A.目標倍率まで濃縮→透析
・この場合、透析液量は少なくて済みますが、ろ過時間が比較的長くなります。
B. 濃縮と透析を同時に行う
・全体のろ過時間は短縮され、透析液量は多くなります。
C. 濃縮→透析→濃縮
・この場合、透析液量とろ過時間が中程度になります。
従って、透析の方法はケースバイケースで決定する必要があります。

A. 目標倍率まで濃縮したあと透析を行う例
- 透析溶液を 3 回に分けて透析

1. 目的液量まで供給液を濃縮します。
2. 濃縮液量の３倍の透析液を用意します。
3. 濃縮液と同量の透析液をリザーバーに加え、濃縮と同じ条件で透析を開始します。
4. 濃縮液が目的液量になったら、再び濃縮液と同量の透析液をリザーバーに加えてさらに透析を行います。

5. この操作を３回繰り返します。

B. 濃縮と透析を同時に行う例。

1. 透析液容器に供給液量の３倍の透析液を入れます。
2. サンプルタンク上蓋の空いている口に透析液のチューブを取り付けて、チューブの反対の口を透析液容器に入れます。
3. 濃縮を開始すると、透過液量と同量の透析液が連続的にリザーバー内に供給されて行きます。
4. 目的の濃縮率になったところで操作を終了します。

7.7. 濃縮液の回収

1. サンプルリザーバータンクの上蓋を開けます。
2. ドレインバルブを開け容器に濃縮されたサンプル溶液を回収します。
3. ポンプを低速で回転させポンプチューブ内、カートリッジ内のサンプル溶液を全て回収します。この時、最後にポンプを逆回転させると効果的です。
4. ドレインバルブを閉じ、タンクに 50ml ほどバッファーを入れポンプ 20-30%の出力で 2-3 分循環させます。
5. ドレインバルブを開け押し出し液を回収します。

8. 実液処理.B　ー　細胞破砕物の清澄化・目的分子の透過　ー

細胞内に分泌された組換えタンパク質を細胞破砕溶液から透過回収するアプリケーションの場合、供給液には多量の細胞破片や顆粒物質が混入しています。目的分子を効率よく透過・回収するためには、膜の表面に形成されるゲル層厚をコントロールする必要があります。以下の点に注意してろ過操作を行ってください。

・ポアサイズ：目的分子の 10 倍
・膜間差圧（TMP）：10 psig 以下
・供給流速：Shear Rate 8,000 sec-1 以上、（目的分子がせん断力に対し弱い場合は供給流速を下げてください）
・リザーバー内で泡立ちを防ぐため、リザーバー内のチューブ出口が液面より上に上がらないように配管の長さを調整すること

8.1. 準備

1. サンプルリザーバータンクにサンプル溶液を入れます。サンプル溶液が１L 以上ある場合は残りを容器に入れ、リザーバーの上蓋の空いている口にシリコンチューブを接続しサンプルを入れた容器にシリコンチューブの端を入れます。あるいは、適時サンプル溶液をリザーバー内に追加します。
2. カートリッジ下部透過液ポートに圧力ゲージを取り付けます。このゲージの圧力は透過圧力を示します。
3. カートリッジ上部透過液ポートに透過液回収用のチューブを取り付けます。またチューブには透過液流量コントロールのためのバルブを取り付けてください。
4. カートリッジ上部透過液ポートに付けたチューブの出口を回収容器に入れます。
5. 出口加圧バルブは全開にします。

8.2. 供給流速を決める

1. 巻末の参考資料「14. せん断力と供給流速」の表を参照し供給流速を決めます。
2. Shear Rate 8,000 sec-1 以上の流速に設定してください。

8.3. ろ過操作開始

1. 初めに透過液回収用チューブに取り付けた透過液流量コントロールバルブを閉じておきます。
2. 8-2 で設定した供給流速でポンプを始動します。
3. 透過液流量コントロールバルブを注意深く少しずつ開いて行きます。バルブを開いて行くと、それに伴い透過圧が減少します。透過圧が陽圧になるよう透過液流量コントロールバルブの開閉度を調節してください。
4. 透過液を回収します。

5. 定時的に実験ログシートに入口圧、出口圧、透過液量を記入します。
6. 操作中はリザーバー内で循環液による気泡の発生を防ぐため、未透過液のチューブ出口は常に供給液面下になるよう注意してください。

※ ろ過が進むにつれ、透過流束は徐々に低下します。初期設定値から極端に下降する場合は以下の方法を試してみてください。

・初期透過流束の設定値が高すぎた可能性があるので、透過液流量コントロールバルブを一度完全に閉じて１分間程経ってから１０%低い透過流束に設定しなおす。
・循環流速を高める。
・加水をスタートする。

※ 透過液流量コントロールを定量ポンプで行うこともできます。

8.4. 加水操作

透過が進み供給液が濃縮されると、顆粒成分や細胞破砕物の膜表面濃度が高まり、目的分子の透過を阻害する層 = ゲル層が形成されます。ゲル層の厚みは顆粒成分の濃度に比例するので適当なバッファーで供給液を希釈することにより透過効率を高めることができます。加水のタイミング、液量および回数は目的分子の透過効率をモニターして決定する必要があります。

9．実液処理.C　―　動物細胞培養液からの目的分子の透過回収　―

動物細胞は非常に壊れやしいため、操作においては以下の点に注意してください。

・ポアサイズ：0.1-0.45μmの MF 膜
・膜間差圧（TMP）：10psig 以下
・供給流速：Shear Rate 4,000 sec-1 以下
・出口加圧バルブは開放にしておく
・透過流束コントロールを行うこと
・リザーバー内で泡立ちを防ぐため、リザーバー内のチューブ出口が液面より上に上がらないように配管の長さを調整すること

9.1.　準備

1. サンプルリザーバータンクにサンプル溶液を入れます。サンプル溶液が１L 以上ある場合は残りを容器に入れ、リザーバーの上蓋の空いている口にシリコンチューブを接続しサンプルを入れた容器にシリコンチューブの端を入れます。あるいは、適時サンプル溶液をリザーバー内に追加します。
2. カートリッジ下部透過液ポートに圧力ゲージを取り付けます。このゲージの圧力は透過流の圧力を示します。
3. カートリッジ上部透過液ポートに透過液回収用のチューブを取り付けます。またチューブには透過液流量コントロールのためのバルブを取り付けてください。
4. カートリッジ上部透過液ポートに付けたチューブの出口を回収容器に入れます。
5. 出口加圧バルブは全開にします。

9.2.　供給流速を決める

動物細胞の場合、Shear Rate 4,000 sec-1 以下の流速に設定してください。

9.3.　透過流束（Flux）の至適化

1. 初めに透過液回収用チューブに取り付けた透過液流量コントロールバルブを閉じておきます。
2. 9.2 で設定した供給流速でポンプを始動します。
3. 入口圧は 10 psig 以下で操作を行ってください。
4. 透過液流量コントロールバルブを注意深く少しずつ開いて行きます。バルブを開いて行くと、それに伴い透過流圧が減少します。透過流圧が陽圧になるよう透過液流量コントロールバルブの開閉度を調節してください。
5. 透過液を回収します。
6. 定時的に「実験ログシート」に入口圧、出口圧、透過液量を記入します。
7. 操作中はリザーバー内で循環液による気泡の発生を防ぐため、未透過液のチュー

ブ出口は常に供給液面下になるよう注意してください。

8. バッファーを加水してできるだけ多くの目的分子を透過させるようにします。

※ ろ過が進むにつれ、透過流束は徐々に低下します。初期設定値から極端に下降する場合は以下の方法を試してみてください。

・初期透過流束の設定値が高すぎた可能性があるので、透過液流量コントロールバルブを一度完全に閉じて１分間程経ってから１０%低い透過流束に設定しなおす。

・細胞洗浄/加水をスタートする。

※ 透過液流量コントロールをポンプで行うことにより、定量的に透過液を回収することができます。

※ 細胞洗浄/加水のタイミング、液量および回数は透過流束（Flux）の低下の具合、目的分子の透過効率、次工程の容量制限などにより異なります。

9.4. 細胞洗浄/加水操作

目的分子の透過が進むと、顆粒成分や細胞破砕物の膜表面濃度が高まり、目的分子の透過を阻害するゲル層が形成されます。ゲル層の厚みは顆粒成分の濃度に比例するので適当なバッファーで供給液を希釈することにより透過効率を高めることができます。

加水のタイミング、液量および回数は目的分子の透過効率をモニターして決定する必要があります。

10.カートリッジの洗浄

使用した後カートリッジは以下の手順に従って洗浄を行ってください。

1. ろ過操作が終了したら、清浄水で十分にカートリッジのリンスを行ってください。
2. 0.5 規定の苛性ソーダに 150ppm の次亜塩素酸ナトリウムを加えた溶液を調製します。
3. ２、の溶液 500ml を 50℃に温めてリザーバーに入れ 1 時間循環させます。溶液の温度が低いと洗浄に時間がかかります。できるだけヒーター等を使い洗浄液を 50℃に保つようにしてください。
4. 洗浄液を清浄水で十分リンスした後、水透過流束を計測します。90%以上の回復率であれば洗浄は良好です。
5. 回復率が悪い場合は、２の操作から洗浄を繰り返してください。

11.カートリッジの保管

11.1. UF 膜カートリッジの保管法

カートリッジは湿らせて、あるいはグリセロール溶液で処理して保管して下さい。保管前に清浄水でカートリッジを十分フラッシング、洗浄、リンスして下さい。２週間以内の短期間保管する場合、カートリッジは水で湿らせるだけで結構です。

１ヶ月以内の保管の場合、カートリッジに保管液を充填して全ての接続部と透過流の出口をシールするか、もしくは保管槽に浸漬しておきます。保管液に適している溶液は次の通りです。

1. 5～10 ppm の活性塩素を含む水（10～20 ppm の次亜塩素酸ナトリウム）
2. 0.1 N 水酸化ナトリウム
3. 3%以下のホルマリン
4. 30%エタノール水溶液
5. １%以下のアジ化ナトリウム

※ １ヶ月以上の保管の場合、膜が湿っているかどうかを定期的に調べます。次回使用前に 100 ppm の次亜塩素酸ナトリウム溶液でカートリッジをリンスするようおすすめします。

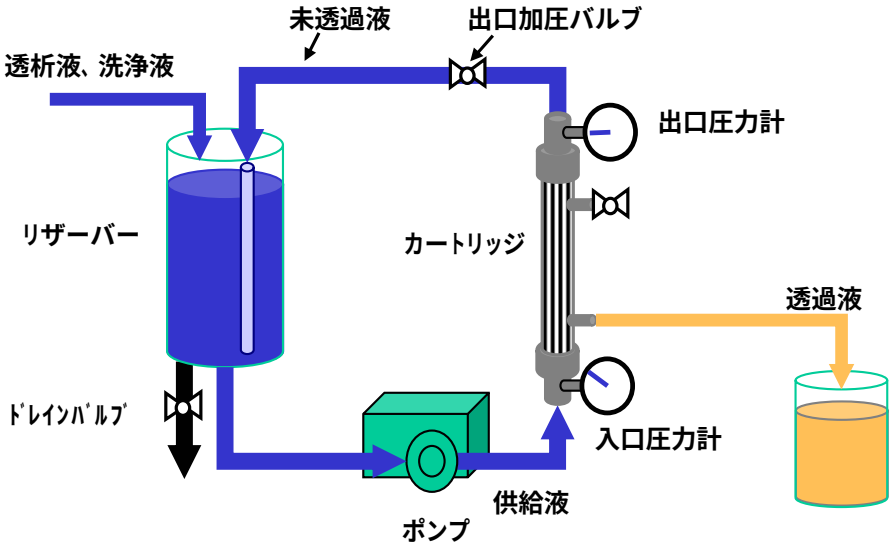
※ 次回使用前に保管液を十分リンスして下さい。

11.2. MF 膜カートリッジの保管法

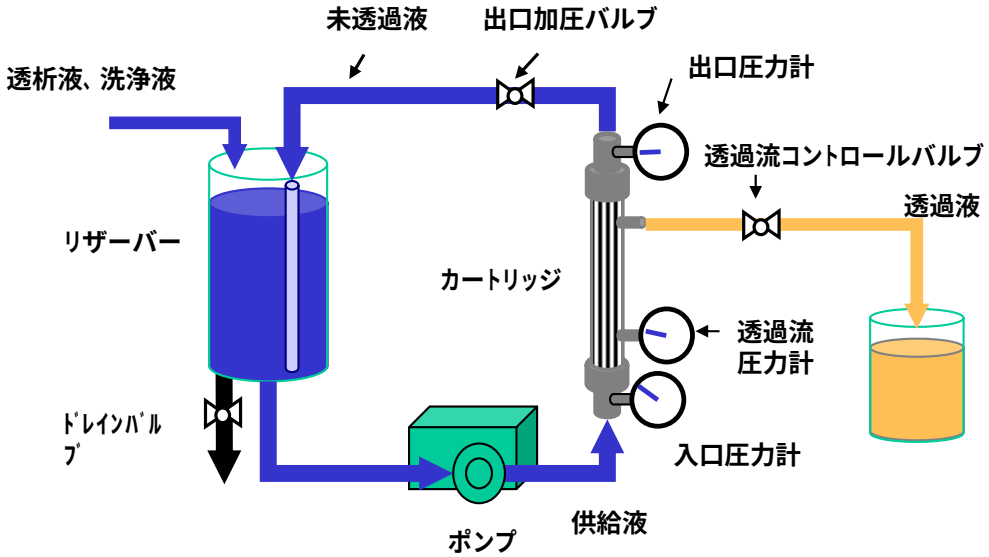
MF カートリッジは洗浄後乾燥状態で保管できます。再使用する前に再度洗浄し、殺菌することをおすすめします。長期保管後膜を湿潤状態に戻すためには、膜の内外面共に 70 % エタノールに１時間程度浸漬してください。その後、エタノールを抜き取り、水でリンス洗浄してください。

12.アプリケーションに適した QuixStand システムの流路の設計

UF膜による濃縮、透析の時のセットアップ



細胞濃縮・細胞破砕物の清澄化の時のセットアップ (透過流コントロール)



13.Hollow Fiber cartridge 選択ガイド

13.1. ポアサイズ

	アプリケーション	Ultrafiltration										Microfiltration			
		1	3	5	10	30	50	100	300	500	750	0.1	0.2	0.45	0.65
Upstream	細胞回収/濃縮														
	ﾊﾞｸﾃﾘｱ細胞									500	750	0.1			
	大腸菌									500					
	動物細胞の清澄化														
	Mabの透過回収												0.2	0.45	
	細胞ﾗｲｾｰﾄの清澄化	(目的分子) X 10倍の大きさのポアサイズ													
	ﾀﾝﾊﾟｸ質の透過回収									500	750	0.1			
DownStream	ｳｲﾙｽの濃縮	(ウイルス粒子) X (1/3～1/5)の大きさのポアサイズ													
	水痘、ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ、はしか										750				
	C型肝炎、エイズ、狂犬病									500					
	B型肝炎、風疹								300						
	ﾎﾟﾘｵ、A型肝炎、日本脳炎							100	300						
	ﾀﾝﾊﾟｸ質、ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞの濃縮	(目的分子) X (1/3～1/5)の大きさのポアサイズ													
	Mab (IgG) の濃縮					30	50								
	ﾀﾝﾊﾟｸ質の濃縮		3	5	10	30	50								
	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞの濃縮	1	3												

13.2. ルーメン内径とカートリッジの長さ

	アプリケーション	ルーメン内径			長さ	
		0.5mm	0.75mm	1mm	30cm	60cm
Upstream	細胞回収/濃縮					
	ﾊﾞｸﾃﾘｱ細胞		0.75	1	30	60
	大腸菌		0.75	1	30	60
	動物細胞の清澄化					
	ﾀﾝﾊﾟｸ質、Mabの回収		0.75	1	30	60
	細胞ﾗｲｾｰﾄの清澄化					
	ﾀﾝﾊﾟｸ質の透過回収		0.75	1	30	60
DownStream	ｳｲﾙｽの濃縮					
	水痘、ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ、はしか	0.5	0.75		30	60
	C型肝炎、エイズ、狂犬病	0.5	0.75		30	60
	B型肝炎、風疹	0.5	0.75		30	60
	ﾎﾟﾘｵ、A型肝炎、日本脳炎	0.5	0.75		30	60
	ﾀﾝﾊﾟｸ質、ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞの濃縮	0.5	0.75		30	60
	Mab (IgG) の濃縮	0.5	0.75		30	60
	ﾀﾝﾊﾟｸ質の濃縮	0.5	0.75		30	60
	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞの濃縮	0.5	0.75		30	60

14.Xampler カートリッジの物理特性

Membrane Area as a Function of Housing & Fiber Internal Diameter					Void Volume and Number of Fibers			
Cartridge Housing Identifier	Fiber Internal Diameter Code	Nominal Fiber IF (mm)	Cartridge Membrane Area (sq. ft.)	Cartridge Membrane Area (sq. cm)	Nominal Number of Fibers	Nominal Void Volume Lumen (ml)	Nominal Void Volume Shell (ml)	Cartridge Housing Identifier
3, 3M	B	0.25	0.40	370	180	3	7	3, 3M
	C	0.5	0.15	140	30	2	9	
	D	0.75	0.13	120	20	3	8	
	E	1	0.12	110	13	3	5	
3X2, 3X2M	C	0.5	0.31	290	30	5	14	3X2, 3X2M
	D	0.75	0.28	260	20	6	14	
	E	1	0.24	225	13	6	12	
4, 4M	B	0.25	1.29	1200	600	10	42	4, 4M
	C	0.5	0.70	650	140	8	45	
	D	0.75	0.50	460	75	10	40	
	E	1	0.45	420	50	12	30	
4X2, 4X2M	C	0.5	1.5	1,400	140	20	75	4X2, 4X2M
	E	1	0.9	850	50	30	50	

15.せん断力と供給流速

供給流速は透過流の透過流束に大きな影響を与えます。カートリッジの循環流速に関する指針として、カートリッジのサイズ、ルーメン内径、せん断率が記載されています。カートリッジの長さに対する圧力損失は供給流速と関係があり、循環流速を求める際にフローメーターの代わりに用いられます。

実験室スケールのカートリッジの場合、ストップウォッチと目盛付シリンダーを使って透過流と未透過流の流速を測定し、それらを単純に足して供給流速を求めます。

Nominal Feed Stream Flow Rates					
Housing Size	Nominal Lumen ID (mm)	Shear Rate ~2000 sec^{-1} (liters/min)	Shear Rate ~4000 sec^{-1} (liters/min)	Shear Rate ~8000 sec^{-1} (liters/min)	Shear Rate ~16000 sec^{-1} (liters/min)
3, 3M, 3X2, 3X2M	0.25	0.05	0.11	0.23	0.4
	0.5	0.06	0.12	0.25	0.5
	0.75	0.1	0.2	0.4	0.8
	1	0.15	0.3	0.6	1.2
4, 4M, 4X2, 4X2M	0.25	0.19	0.38	0.76	1.5
	0.5	0.3	0.6	1.2	2.4
	0.75	0.4	0.8	1.5	3
	1	0.6	1.2	2.5	5

EXPERIMENTAL TEST DATA LOG SHEET

Page ____of____

Date Taken by _____

Feed Stream: _____

_____

Cartridge Model #:_____ Pore Size: _____

pH: _____ Temperature (°C): _____

Lumen Diameter (mm): _____ Membrane Area (m^2): _____

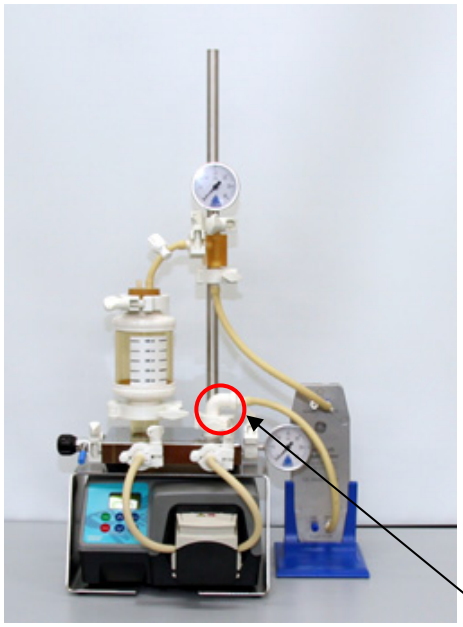
Date	Time	Feed Volume (liter)	Perm. Volume (liter)	Feed Conc. Factor*	Diafiltration Volume (liter)	Temp (°C)	Feed Flow (lpm)	Pressure				Permeate Flow		Comments
								In (psig)	Out (psig)	Perm (psig)	TMP (psig)	(cc/min)	(lmh)	

GE Healthcare

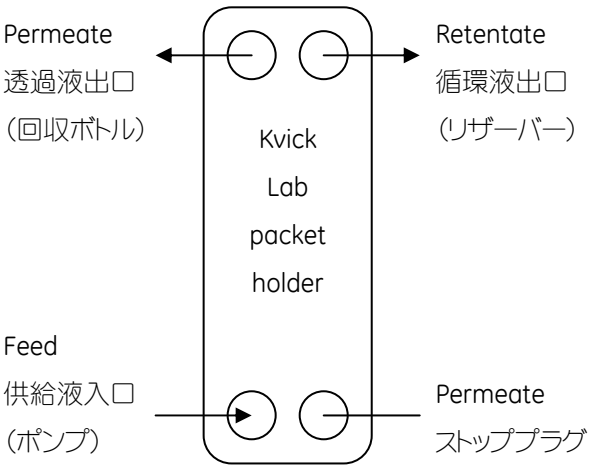
QuixStand システムとフラットシートタイプメンブレンの接続方法

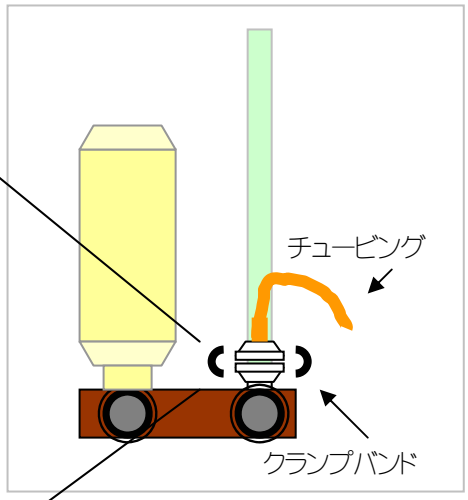
ホローファイバータイプ（Xampler 3M, 4M など）とフラットシートタイプ（Kvick Lab など）では接続方法が異なります。

1）Kvick Lab packet holder の接続方法（膜面積 0.01～0.1 m²）



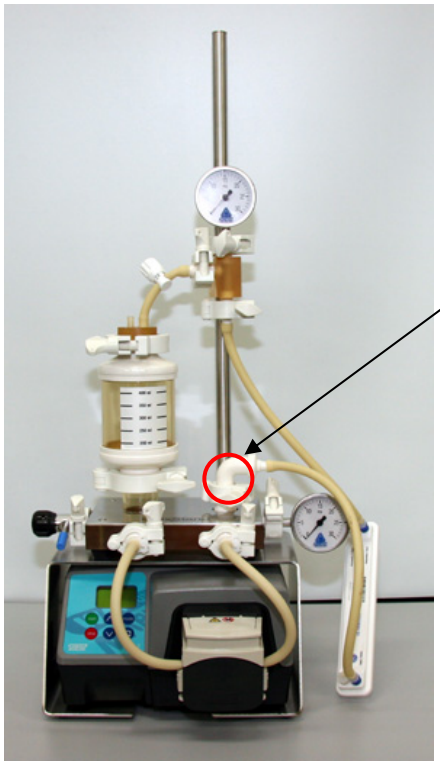
Size 16 チュービング（オプション）または
Size 17 チュービングを使用（流量、ポンプ回転数、膜面積に依存）



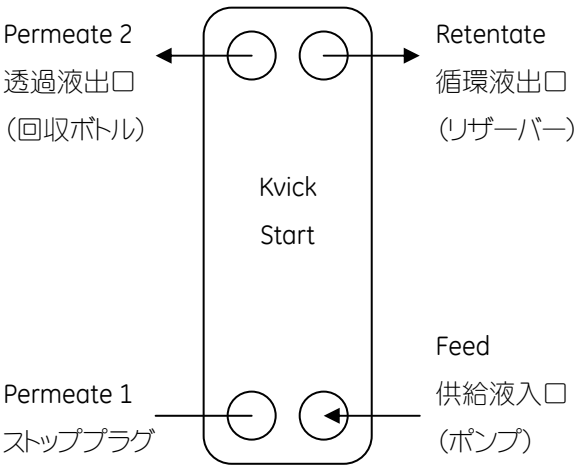


上図のように変更になっています。

2）Kvick Start の接続方法（膜面積 50 cm²）



Size 16 チュービング（オプション）を使用



付録

1）アクセサリー&スペアパーツ

製品名	コード番号	容量
Size 16 tubing, Silicone	56-4106-17	3.1 m
Size 17 tubing, Bioprene	56-4106-18	3.1 m
Size 18 tubing, Bioprene	56-4106-19	3.1 m
0.5-in TC Gasket, silicone	56-4109-94	4 個
0.75-in TC Gasket, silicone（圧力ゲージ用）	56-4109-95	4 個
1.5-in TC Gasket, silicone（リザーバー用）	56-4109-96	4 個
0.5-in TC to 0.25-in barb adaptor, polysulfone	56-4109-79	2 個
0.5-in TC to 3/8-in barb adaptor, polysulfone	56-4109-80	2 個
0.5-in TC Clamp, nylon	56-4106-66	1 個
1.5-in TC Clamp, nylon（リザーバー用）	56-4106-68	1 個
0.5-in TC to 0.25-in tubing adaptor kit	56-4109-16	2 セット
0.5-in TC to 3/8-in tubing adaptor kit	56-4107-30	2 セット
Back pressure valve, size 14 and 16 tubing, nylon	56-4105-88	1 個
Back pressure valve, size 17 tubing, nylon	56-4105-89	1 個
Pressure gauge kit（透過圧測定用）	56-4106-09	1 式
Kvick Lab Packet Holder	11-0006-70	1 式
Kvick Lab holder torque wrench	56-4112-84	1 式
Luer Fittings 3.0mm id, VRM306	72-1107-01	10 個
Luer Fittings 6.0mm id, VRM506	72-1108-01	10 個
Kvick UNF accessory Kit	11-0006-71	1 式

2）ポンプ流量（目安）換算表（ml/min）

	15 rpm	25 rpm	50 rpm	100 rpm	200 rpm	300 rpm	400 rpm
Size 16 tubing	15	25	50	100	200	300	400
Size 17 tubing	52.5	87.5	175	350	700	1,050	1,400
Size 18 tubing	75	125	250	500	1,000	1,500	2,000

サイズ 16 チュービング

$$\text{流量（ml/min）} = 400 \times \frac{\text{回転数（rpm）}}{400} \qquad \text{回転数（rpm）} = 400 \times \frac{\text{流量（ml/min）}}{400}$$

サイズ 17 チュービング

$$\text{流量（ml/min）} = 1{,}400 \times \frac{\text{回転数（rpm）}}{400} \qquad \text{回転数（rpm）} = 400 \times \frac{\text{流量（ml/min）}}{1{,}400}$$

サイズ 18 チュービング

$$\text{流量（ml/min）} = 2{,}000 \times \frac{\text{回転数（rpm）}}{400} \qquad \text{回転数（rpm）} = 400 \times \frac{\text{流量（ml/min）}}{2{,}000}$$

3）圧力換算表（14.5 psi = 1 bar = 0.1 MPa）

単位	psi	bar	MPa
psi	1	0.069	0.0069
bar	14.5	1	0.1
MPa	145	10	1